

Lek. med. Anna Niezgoda

OCENA PRZYDATNOŚCI TESTU WESTERNBLOT IgM/IgG WE WCZESNEJ DIAGNOSTYCE TOKSOPLAZMOZY WRODZONEJ

Streszczenie

1.1 Wprowadzenie

Wrodzona toksoplazmoza (WT) to krwiopochodne przezłożyskowe zakażenie płodu pierwotniakiem *Toxoplasma gondii* (T. gondii). Do zarażenia płodu dochodzi w przypadku, gdy ciężarna choruje na pierwotną toksoplazmozę. Ryzyko matczyno- płodowej transmisji pierwotniaka (MPT) oraz ciężkość objawów choroby u dziecka zależą od okresu ciąży, w którym doszło do zarażenia. Istnieje możliwość ograniczenia niekorzystnego wpływu zarażenia T. gondii na rozwijający się płód. Zastosowanie u ciężarnej chemioprophylaktyki spiramycyną zmniejsza ryzyko MPT, natomiast, w przypadku potwierdzonego zarażenia płodu, leczenie ciężarnej pirymetaminą i sulfadiazyną (P/S) ogranicza liczbę ciężkich objawowych przypadków wrodzonej toksoplazmozy. 90% dzieci z wrodzoną toksoplazmozą nie prezentuje objawów po urodzeniu – choroba nierozpoznana i nieleczona może prowadzić do późnych powikłań: upośledzenia widzenia i ślepoty oraz poważnych zaburzeń neurorozwojowych. Leczenie przeciwpierwotniakowe pirymetaminą i sulfadiazyną w osłonie kwasu folinowego zastosowane wcześniej po urodzeniu, chroni dzieci bez objawów zakażenia przed poważnymi następstwami okulistycznymi oraz poprawia rozwój dzieci z objawową postacią choroby.

W Polsce, prowadzi się przesiewowe badania ciężarnych pod kątem pierwotnego zarażenia pierwotniakiem T. gondii. Korzyści z prawidłowo przeprowadzonej diagnostyki ciężarnych obejmują: ograniczenie liczby ciężkich przypadków wrodzonej toksoplazmozy oraz zdefiniowanie grupy noworodków, które powinny być po urodzeniu przebadane w kierunku zakażenia pierwotniakiem. Jedynie 10% noworodków z wrodzoną toksoplazmozą prezentuje objawy choroby. Bez skringu ciężarnych noworodki bezobjawowe, ale zarażone, nie otrzymają leczenia, co może powodować poważne konsekwencje zdrowotne – ze ślepotą włącznie.

Diagnostyka noworodków z podejrzeniem WT opiera się w praktyce na testach serologicznych, których czułość i swoistość jest w tej grupie wiekowej dość niska. Jedynie 25-50% zakażonych noworodków, wykazuje dodatnie odczyny w klasie IgM. Z kolei,

obecność u noworodka przeciwciał w klasie IgG nie ma znaczenia diagnostycznego z uwagi na bierny transfer matczynych IgG przez łożysko. Z tego powodu wykonanie u noworodka pojedynczego badania serologicznego rzadko pozwala na jednoznaczne wykluczenie czy potwierdzenie zakażenia pierwotniakiem. Nadal „złotym standardem” rozpoznania wrodzonej toksoplazmozy pozostaje przetrwanie swoistych przeciwciała w klasie IgG w surowicy dziecka do 12 miesiąca życia.

W poszukiwaniu dodatkowych metod wczesnej diagnostyki wrodzonej toksoplazmozy wprowadzono test jakościowy oparty na metodzie westernblot (WB). Test WB IgM/IgG wykonany w pierwszych trzech miesiącach życia dziecka, pozwala różnicować przeciwciała własne noworodka, wyprodukowane w odpowiedzi na zarażenie *T. gondii*, od przeciwciał matczynych biernie przeniesionych przez łożysko. Stwierdzenie w surowicy dziecka obecności przeciwciał o innej specyficy antygenowej niż u matki pozwala potwierdzić WT.

1.2 Cel pracy

Celem głównym pracy była ocena przydatności testu Toxoplasma WB IgG/IgM (LDBIO, Lion, France) we wczesnej diagnostyce wrodzonej toksoplazmozy.

Dodatkowym celem była ocena poprawności i skuteczności badań przesiewowych ciężarnych, prowadzonych zgodnie z obowiązującymi w Polsce rekomendacjami.

1.3 Materiał i metody

Do badania zakwalifikowano grupę noworodków urodzonych z ciąż z pierwotną toksoplazmozą – łącznie 96 pacjentów. W populacji badanej wyodrębniono trzy podgrupy w zależności od czasu serokonwersji ciężarnej (I, II i III trymestr) i ryzyka matczyno-płodowej transmisji pierwotniaka *T. gondii*. Każda grupa została przeanalizowana pod kątem zastosowanych prenatalnie działań diagnostycznych (amniopunkcja, wynik badania PCR z płynu owodniowego, USG płodu) oraz interwencji (chemioprofilaktyka spiramycyną, leczenie P/S).

U wszystkich zakwalifikowanych do badania noworodków wykonano jednocześnie ilościowy test serologiczny Architect Toxo IgM IgG (Abbot) i test Toxoplasma WB IgG/IgM (LDBIO, Lion, France) oraz przeprowadzono szczegółową diagnostykę narządową ze szczególnym uwzględnieniem zmian na dnia oka oraz w ośrodkowym układzie nerwowym. Wszyscy pacjenci pozostawali w obserwacji przez 12 miesięcy. Punktem kończącym badanie i ostatecznym momentem rozpoznania lub wykluczenia wrodzonej toksoplazmozy było badanie serologiczne wykonane w 12 miesiącu życia. Przetrwanie dodatnich odczynów

serologicznych w klasie IgG u dziecka potwierdzało wrodzoną toksoplazmozę („złoty standard”). Czulość i swoistość badanego testu WB określano w odniesieniu do „złotego standardu”

1.4 Wyniki

Wrodzoną toksoplazmozę rozpoznano u 45 pacjentów (46,9%). Test WB był dodatni u 44 pacjentów, z czego u 37 potwierdzono wrodzoną toksoplazmozę w 12 miesiącu życia.

Czulość testu Toxoplasma WB IgG/IgM (LDBIO, Lion, France) wynosiła 76.9%, swoistość 93,5%. Obecność dodatnich wyników testu w klasie IgG zwiększała swoistość testu i PPV do 100%. Porównanie z zastosowanym testem serologicznym Architect (czulość 31%, swoistość 96,3%) oraz wysoki współczynnik wiarygodności testu (LR+ 11,8/LR- 0,25) wskazuje na użyteczność testu WB oraz potwierdza zasadność jego zastosowania we wczesnej diagnostyce wrodzonej toksoplazmozy.

Dodatni wynik testu WB pozwolił na postawienie rozpoznania u 60,9% pacjentów z bezobjawowym zakażeniem T. gondii, było to średnio 7 miesięcy wcześniej niż na podstawie ilościowego testu serologicznego. Ujemny wynik testu WB pozwolił ograniczyć liczbę dzieci leczonych na podstawie wywiadu prenatalnego o 30%.

Analiza wywiadu prenatalnego wykazała, że chemioprophylaktykę spiramycyną zastosowano u 77,1% ciężarnych z serokonwersją odczynów T. gondii. Amniopunkcja diagnostyczna była wykonywana w mniej niż połowie przypadków (40%). Prenatalne leczenie pirymetaminą i sulfadiazyną stosowano u ciężarnych wyłącznie na podstawie dodatniego wyniku PCR T. gondii z płynu owodniowego.

Ryzyko matczyno-łożyskowej transmisji przezłożyskowej pierwotniaka wyniosło odpowiednio: 8,3% w I trymestrze, 63,4% w II trymestrze i 84,2% w III trymestrze. W grupie z rozpoznaną toksoplazmozą wrodzoną 48,9% noworodków prezentowało objawy kliniczne choroby: częściej były to zmiany w ośrodkowym układzie nerwowym 40%, niż zmiany na dnie oka 33%.

1.5 Wnioski

1. Test Toxoplasma WB IgG/IgM (LDBIO, Lion, France) ma relatywnie wysoką czulość i swoistość oraz wysoki współczynnik wiarygodności, dlatego powinien być stosowany we wczesnej diagnostyce wrodzonej toksoplazmozy

2. Schemat badań przesiewowych kobiet ciężarnych w Polsce w kierunku pierwotnego zarażenia *T. gondii* nie jest zaplanowany optymalnie, na co wskazuje:
 - Wysokie ryzyko MPT zarażenia w II i III trymestrze ciąży
 - wysoki odsetek dzieci z objawowym zakażeniem *T. gondii* 48,9%
3. Diagnostyka i leczenie prenatalne wrodzonej toksoplazmozy w Polsce wymagają aktualizacji.
4. Istnieje pilna potrzeba weryfikacji postępowania, zarówno w okresie prenatalnym jak i z noworodkiem, w przypadku podejrzenia wrodzonego zarażenia *T. gondii*. Zasadnym jest również wyznaczenie ośrodków referencyjnych do diagnostyki laboratoryjnej i klinicznej wrodzonej toksoplazmozy.

